

УДК 632.651

ЦИКЛ РАЗВИТИЯ *BURSAPHELENCHUS MUCRONATUS* MAMIYA
ET ENDA, 1979 (NEMATODA: APHELENCHIDA)

© А. Ю. Рысс,¹ А. Ю. Чернецкая²

¹ Зоологический институт РАН
Университетская наб., 1, С.-Петербург, 199034
E-mail: nema@zin.ru
² Санкт-Петербургский государственный университет
Университетская наб., 5/7, С.-Петербург, 199034
Поступила 22.08.2007

Изучено постэмбриональное развитие *Bursaphelenchus mucronatus*. Первая линька внутри яйцевой оболочки, 3 последующие линьки происходят после вылупления. Описано строение всех стадий личинок, линяющих личинок и половозрелых особей. Стадии развития отличаются по строению полового зачатка, зачатков наружных половых органов и размерам тела. У личинок 3-го и 4-го возрастов можно определить пол. Половозрелые особи отличаются от личинок наличием вульвы самки и спикул самца. Приведен определительный ключ стадий и пола у личинок и половозрелых особей. У самцов имеется бурса в виде терминального лепестка и 3 пары хвостовых папилл: первая аданальная; и две постанальных у основания бурсы: вторая медиальная у центральной линии поверхности тела, третья латеральная по бокам от второй; имеется также непарная папилла непосредственно кпереди от отверстия клоаки.

Изучение цикла развития фитопатогенных нематод и диагностика отдельных стадий развития необходимы для сравнительного анализа паразитарных адаптаций у представителей разных таксонов червей и понимания становления эволюции паразитизма в целом.

Слабопатогенный вид *Bursaphelenchus mucronatus* в рамках рода *Bursaphelenchus* относится к группе видов *xylophilus*. Морфологически он очень близок к особо патогенному виду *B. xylophilus*, вызывающему вилт коммерческих хвойных пород и входящему в список A1 особо опасных карантинных организмов, составленный Европейской организацией по защите растений (OEPP/EPPO, 2006). Многие биологические свойства *B. xylophilus* и группы видов *xylophilus* в целом удобно изучать на близком виде *B. mucronatus*, поскольку работа с последним исключает риск попадания опасного патогена в окружающую среду. Биологические отличия между двумя видами состоят в небольшом различии способов заражения растения: у *B. xylophilus* имеются 2 пути попадания нематод в интактное растение: 1) переносчик жук-усач рода *Monochamus* (Coleoptera: Cerambycidae) заражает хвойное растение сразу после превращения куколки в имаго, при вторичном питании молодыми ве-

точками живого дерева; 2) самка усача передает нематод при яйцекладке в мертвое дерево. Для *B. mucronatus* первый путь заражения не обнаружен, поэтому этот вид неопасен для живых интактных деревьев. Однако, как показали лабораторные опыты, при определенных условиях *B. mucronatus* также может вызывать вилт хвойных: при совместном заражении с патогенными бактериями (Zhao et al., 2003; Zhao, Lin 2005).

Нематоды рода *Bursaphelenchus* относятся к сем. Parasitaphelenchidae про-двинутого надсем. Aphelenchoidea из отряда Aphelenchida. Кроме переносчика-насекомого, цикл паразитафеленхид включает 2 хозяев — растение (обычно хвойное сем. Pinaceae) и гриб-базидиомицет (Hunt, 1993; Ryss et al., 2005a; Рысс, 2007). Гриб, вероятно, является наиболее древним компонентом цикла, поскольку многие виды близкого примитивного надсем. Aphelenchoidea являются микофагами, не связанными с растениями и не имеющими переносчика. Данная работа является продолжением исследований по циклам развития нематод отряда Aphelenchida, начатого с весьма примитивного вида *Paraphelenchus myceliophthorus* (Рысс, Чернецкая, в печати).

Целью настоящего исследования была разработка диагностики стадий и пола у личинок *B. mucronatus*. Особое внимание уделялось размерам и строению полового зачатка и зачатков наружных половых структур, так как именно эти признаки наиболее полезны в диагностике возрастов и пола личинок фитонематод (Hirschmann, 1962, 1971; Рысс, 1981).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Тридцать экземпляров нематод рода *Bursaphelenchus* выделены на воронке Бермана из пиломатериалов из древесины лиственницы *Larix sibirica*, поступившей в Санкт-Петербург из Иркутской обл. Нематоды размножены до нескольких десятков тысяч особей в культуре *Botrytis cinerea* по стандартной методике в чашках Петри на картофельном агаре (PDA, Sigma Chemical, St Louis, MO, USA) и определены до вида. Для фиксации и изготовления постоянных коллекционных препаратов использован экпресс-метод (Ryss, 2003). Нематод фиксировали в горячем 4%-ном формалине и в горячем фиксаторе ТАФ (91 мл дистиллированной воды, 2 мл триэтаноламина, 7 мл 40%-ного формалина). Для более детального изучения морфологии использован метод окрашивания фиксированных в ТАФ личинок и половозрелых особей в ацет-орсенине (Рысс, 1988). Для изучения развития внутрияйцевой оболочки использован метод наблюдения в тонкой агаровой пленке (Sulston, Horvitz, 1977) в модификации Хасегава с соавт. (Hasegawa et al., 2004, 2006).

Нематод и яйца фотографировали при 1750-кратном увеличении светового микроскопа с помощью видеокамеры Panasonic-WV-GP460. Файлы фотографий небольших участков тела нематод совмещали в тотальные образы в программе Adobe Photoshop CS2, модуль Photomerge, с использованием приемов, описанных ранее (Ryss et al., 2005b). Рисунки изготавливали по совмещенным тотальным изображениям в программе CorelDraw 11 (инструменты Freehand Tool и Polyline Tool) и затем экспорттировали в tif-формат (опция черно-белого bmp, разрешение 1200 dpi). Завершающую подготовку рисунков производили в программе Adobe Photoshop CS2. Измерения нематод выполнены в программе UTHSCSA ImageTool.

Линяющих нематод распознавали по отслоению кутикулы на переднем и заднем концах тела нематоды. Число линек подсчитывали, сравнивая морфологию и размеры тела линяющих и нелинияющих особей, при этом особое

внимание уделяли структуре полового зачатка и зачатков наружных половых органов (зачатка вульвы самки и зачатка клоаки самцов).

Морфометрические параметры соответствуют общепринятым в описании видов фитонематод (Рысс, 1988; Ryss et al., 2005a). К этим параметрам добавлены показатели, характеризующие абсолютные и относительные величины полового зачатка и зачатка клоаки самца. Для личинок добавлен коэффициент (I), аналогичный вульварному индексу V половозрелых самок: отношение расстояния от переднего конца тела до точки прикрепления полового зачатка к стенке тела (места будущей вульвы) к общей длине тела (%). Для личинок самцов введен аналогичный индекс (Gp): отношение расстояния от переднего конца тела до заднего конца полового зачатка к общей длине тела. Изучение структуры полового зачатка производили на фиксированных распластанных покровным стеклом экземплярах личинок нематод, погруженных в минимальное количество глицерина. Поэтому морфометрические отношения, использующие ширину участков тела (a, c'), перерассчитывали, принимая измеренную ширину распластанного тела за $\pi D/2 = 1.57 D$ (диаметра не распластанного тела), т. е. значения a и c' увеличены в 1.57 раз. Все измерения даны в микронах (мкм). Измеряли только нематод, фиксированных в горячем ТАФ, поскольку фиксация в горячем 4%-ном формалине приводит к значительному укорочению длины тела.

Постоянные коллекционные препараты личинок и половозрелых особей и живые культуры *Bursaphelenchus mucronatus* на грибе *Botrytis cinerea* хранятся в Государственной коллекции нематод Зоологического института Российской Академии наук (ЗИН РАН). Совмещенные цветные изображения личинок и половозрелых особей в формате JPEG помещены на сайте ЗИН РАН по url-адресу http://www.zin.ru/Animalia/Nematoda/eng/col_en/index.html.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Развитие внутри яйцевой оболочки (рис. 1)

Цель работы — определение числа линек и диагностика стадий постэмбрионального развития. Поэтому для прослеживания эмбрионального развития внимание уделено лишь начальному и завершающему этапам. Первое деление проходит по диагонали яйца (рис. 1, б, в). Образовавшиеся 2 бластомера вновь делятся, формируя стадию ромба (рис. 1, г). После серии делений дробления определяются передний и задний концы зародыша, а также его спинная и брюшная стороны (рис. 1, д—з). Передний конец несет более мелкие бластомеры; также бластомеры спинной стороны меньше по размерам, чем бластомеры центральной стороны (рис. 1, ж, з). Тело зародыша удлиняется и возникает первый его изгиб; на переднем конце зародыша различима глотка (рис. 1, и). Затем тело еще более удлиняется, формируется личинка первого возраста (J1), образующая 2 изгиба тела внутрияйцевой оболочки и находящаяся в непрерывном движении. У личинки первого возраста различим зачаток глотки с медиальным бульбусом, но без кутикулярного протока и клапана. Стилет отсутствует. В яйце происходит и первая линька; видно отслоение кутикулы на переднем конце тела (рис. 1, л). Из яйца выходит уже личинка второго возраста J2 (рис. 1, м). В теле J2 отчетливо видны глотка с кутикулярным протоком и медиальным бульбусом с хорошо развитым кутикулярным клапаном; на заднем конце глотки видна лопасть из 3 желез. На переднем конце тела виден кутикулярный стилет с

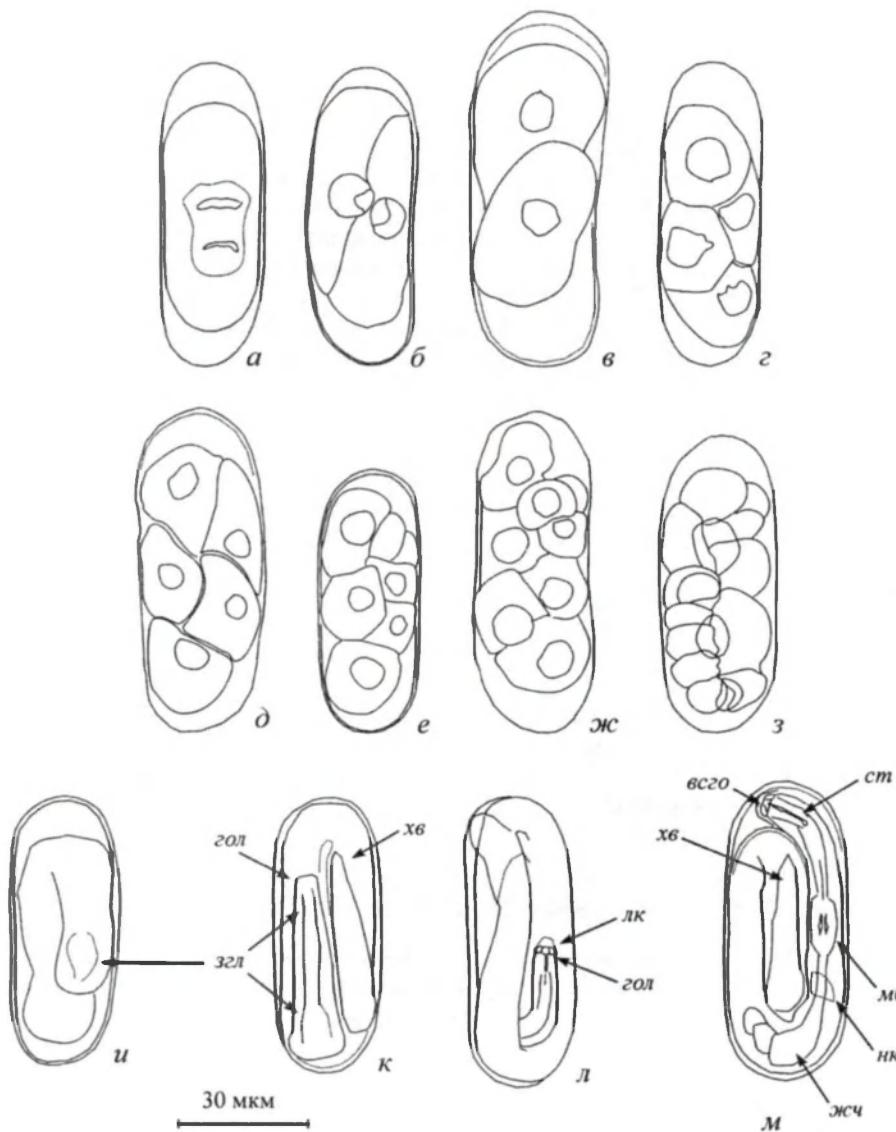


Рис. 1. Эмбриональное развитие *Bursaphelenchus mucronatus*.

a — первое деление; *б, в* — стадия двух бластомеров; *г* — стадия ромба (4 бластомера); *д* — стадия 5 бластомеров; *е* — стадия 6 бластомеров; *ж* — стадия 8 бластомеров; *з* — стадия 16 бластомеров; *и* — червеобразный эмбрион; *к* — личинка 1-й стадии (стилет отсутствует, и глотка не дифференцирована на отделы); *л* — линька с 1-го на 2-й возраст внутри яйца; *м* — личинка 2-го возраста (развит стилет и внутренний скелет губной области, в глотке дифференцирован медиальный бульбус и железистая часть). *всго* — внутренний скелет губной области, *гол* — голова, *жч* — железистая часть глотки, *згл* — зачаток глотки, *лк* — линочная кутикула, *мб* — медиальный бульбус, *нк* — нервное кольцо, *ст* — стилет, *хв* — хвост.

Fig. 1. Development inside of an egg-shell of *Bursaphelenchus mucronatus*.

хорошо развитым кутикулярным внутренним скелетом губной области (рис. 1, *м*).

Ниже приведены описания морфологии стадий развития за пределами яйцевой оболочки: 2–4 личинок 2-го, 3-го и 4-го возрастов, а также половоизрелых особей, представляющих собой 5-й возраст цикла развития.

Личинка второго возраста (J2) (рис. 2, а; 3, а, б; 4, а, б; 5, а, б)

Пол личинки на этой стадии по морфологии определить нельзя.

Измерения и индексы (n = 20)

L 306 ± 46 (229—389); стоматостиль 12 ± 1 (10—13); глотка до глоточно-кишечного соединения 66.8 ± 5.4 (57—78); глотка до заднего конца лопасти желез 106.3 ± 8.0 (93—117); хвост 20.9 ± 4.1 (15—27); длина полового зачатка 10.3 ± 2.0 (8—14); ширина полового зачатка 5.4 ± 1.3 (3—8); экскреторная пора от переднего конца тела отстоит на 65.8 ± 3.0 (62—70).

a 25.2 ± 1.8 (21.4—28.0); b 4.6 ± 0.5 (3.9—5.6); b' 2.9 ± 0.3 (2.3—3.5); c 14.8 ± 1.2 (13.2—17.3); c' 3.1 ± 0.3 (2.7—3.7); (V) 60.9 ± 2.4 (57.1—64.7) %; отношение длины полового зачатка к его ширине 2.0 ± 0.4 (1.3—2.8); отношение длины герминалной части полового зачатка к длине полового зачатка 65 ± 9 (50—78) %; отношение длины полового зачатка к длине тела 3.4 ± 0.6 (2.8—4.5) %.

Головная область эллипсовидная, обособленная, имеется стилет, глотка с медиальным бульбусом, снабженным кутикулярным клапаном. Экскреторная пора на уровне задней границы нервного кольца. Задняя железистая часть глотки позади нервного кольца в виде дорсальной лопасти с 3 ядрами желез — 1 крупным ядром исходно дорсальной железы и 2 более мелкими ядрами первично вентросублатеральных желез. Вдоль центральной поверхности тела проходит ряд плотных мелких ядер центральной гиподермальной хорды.

Половой зачаток в задней трети тела. В его центральной части находятся 2 герминалные клетки с крупными прозрачными ядрами; на полюсах зачатка находятся по одной соматической клетке с плотным мелким ядром.

Кончик хвоста округлый, без выростов; различимы 4 ядра одноклеточных желез кончика хвоста.

Личинки в стадии линьки J2—J3 (рис. 2, б; 3, в, г; 4, в; 5, в, г)

У линяющих особей кутикула отслаивается на переднем конце тела. Строение глотки и переднего конца тела соответствует таковому у личинок предыдущей стадии. Половой зачаток состоит из 11—14 клеток, из них 2 крупные герминалные клетки и 7—10 соматических, кроме того, имеются 2 апикальных (соматических) ядра на полюсах зачатка. Личинки самок в этой линьке уже отличаются от личинок самцов: у последних имеется зачаток клоаки и герминалная клетка находится на заднем конце зачатка; у личинок самки зачаток клоаки отсутствует и герминалная клетка находится на переднем конце зачатка.

Кончик хвоста округлый, без мукро и выростов. Вблизи заднего конца видны хорошо окрашивающиеся орсином 4 одноклеточные железы с протоками, достигающими кончика хвоста (рис. 5, г).

Личинка самки в стадии линьки J2♀—J3♀ (рис. 2, б; 3, в, г)

Измерения и индексы (n = 3)

L 333 (292—354); стоматостиль 10—11; глотка до глоточно-кишечного соединения 68 (65—70); глотка до заднего конца лопасти желез 109 (103—112); хвост 21 (17—23); длина полового зачатка 14 (10—17); ширина полового зачатка 6—7.

a 19.8 (19.1—20.6); b 4.9 (4.5—5.2); b' 3 (2.8—3.2); c 16.2 (15.3—17.2); c' 1.8 (1.3—2.1); (V) 62.2 (62—63) %; отношение длины полового зачатка к его ширине 2.2 (1.7—2.8); отношение длины герминалной части полового зачатка

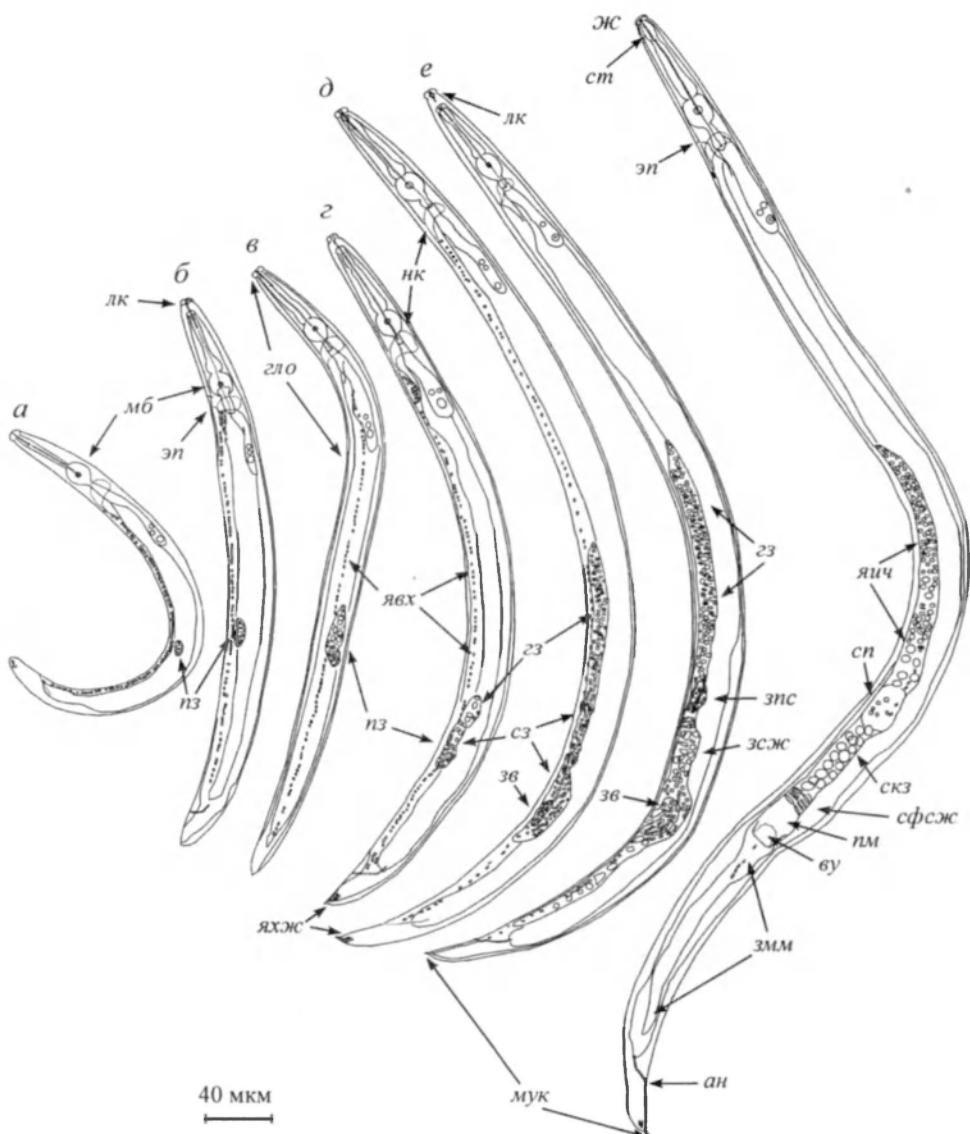


Рис. 2. Стадии развития самки.

a — личинка 2-го возраста; *б* — линька со 2-го на 3-й возраст; *в* — личинка 3-го возраста; *г* — линька с 3-го на 4-й возраст; *д* — личинка 4-го возраста; *е* — линька с 4-го возраста на половозрелую самку; *ж* — половозрелая молодая самка. *в*, *ж* — вид с вентральной стороны; остальные фигуры — вид с латеральной стороны. *ан* — анус, *ву* — вульва, *гл* — герминальная зона зачатка, *зг* — глотка, *зв* — зачаток вульвы, *змм* — задний мешок матки, *зсж* — зачаток скорлуповой железы, *зсп* — зачаток сперматеки, *мук* — мукро, *пз* — половой зачаток, *пм* — передняя часть матки, *сз* — соматическая зона зачатка, *скз* — скорлуповая железа, *сп* — сперматека, *ст* — стомастиль, *сфсж* — сфинктер скорлуповой железы, *эп* — экскреторная пора, *яах* — ядра вентральной гиподермальной хорды, *яич* — яичник, *яхж* — ядра одноклеточных хвостовых желез.

Fig. 2. Stages in the female development.

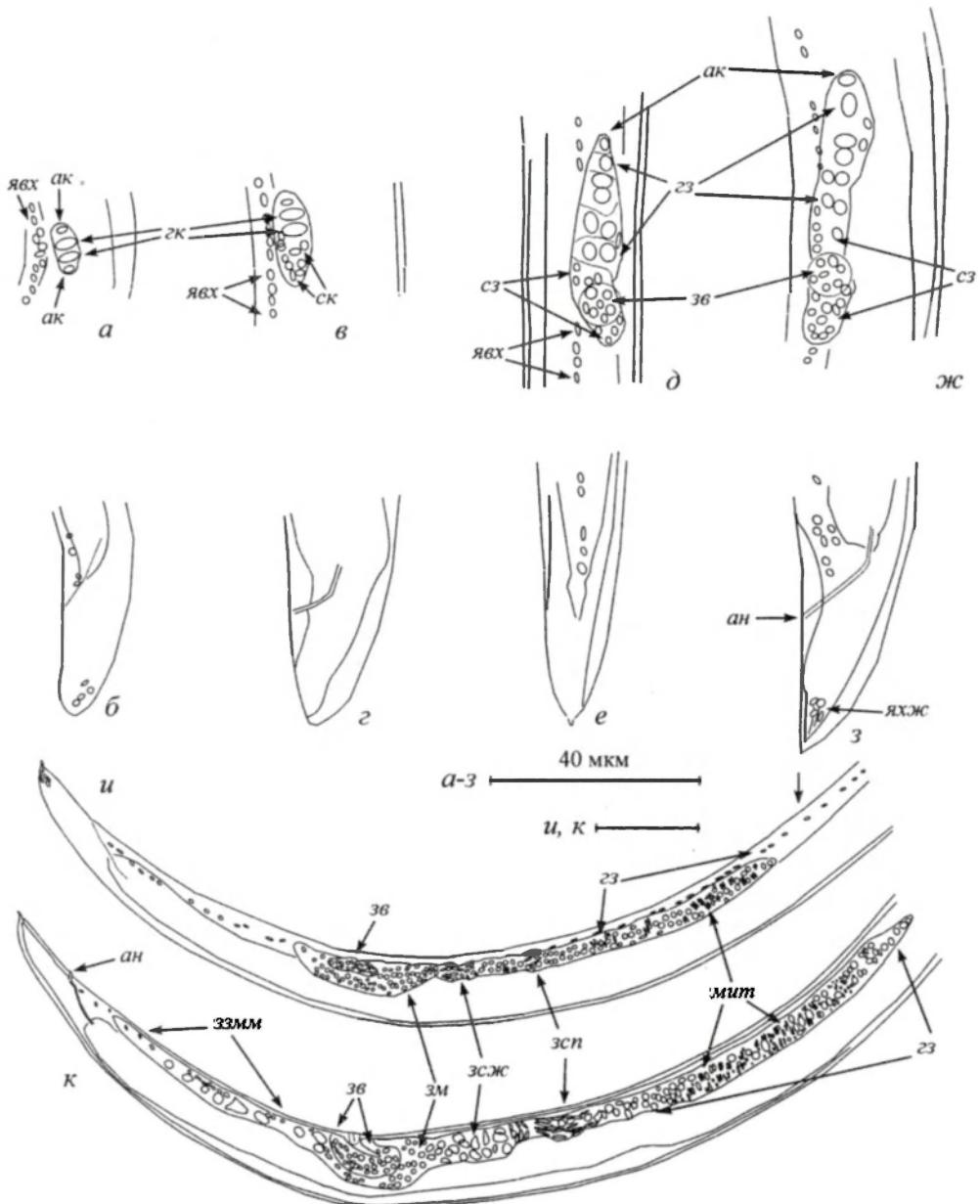


Рис. 3. Половой зачаток личинок самки.

a, б — личинка 2-го возраста; в, г — линька со 2-го на 3-й возраст; д, е — личинка 3-го возраста; ж, з — линька с 3-го на 4-й возраст; и — личинка 4-го возраста; к — линька с 4-го возраста на половозрелую самку. ак — вид с вентральной стороны; остальные фигуры — вид с латеральной стороны. ак — апикальная клетка, гк — герминальная клетка, ззмм — зачаток заднего мешка матки, зм — зачаток передней части матки, мит — митозы, ск — соматические клетки. Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

Fig. 3. Genital primordium structure in the female development.

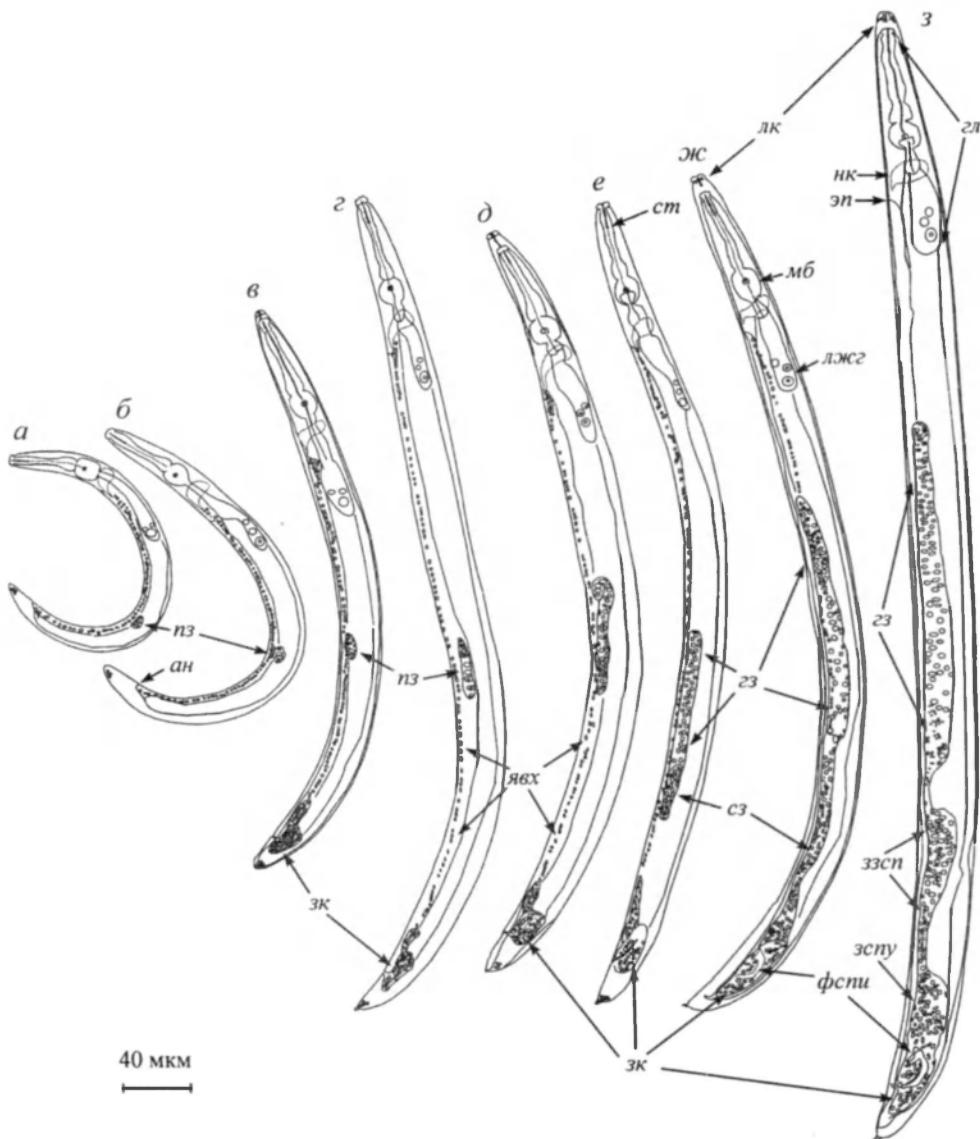


Рис. 4. Стадии личинок самца.

a, б — личинки 2-го возраста (*a* — ранняя, *б* — поздняя); *в* — линька со 2-го на 3-й возраст; *г* — личинка 3-го возраста; *д* — линька с 3-го на 4-й возраст; *е* — личинка 4-го возраста; *ж*, *з* — линька с 4-го возраста на половозрелого самца (*ж* — ранняя, *з* — поздняя). Все фигуры — вид с латеральной стороны. *ззсп* — зародыш сперматид, *зк* — зародыш клоаки, *зспу* — зародыш предстательной железы и семенного пузырька, *лжс* — лопасть желез глотки, *фспи* — формирующиеся спикулы. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1, 2.

Fig. 4. Juvenile stages in the male development.

к длине полового зародыша 72 (57—90) %; отношение длины полового зародыша к длине тела 4.1 (2.8—4.8) %.

Две крупные герминальные клетки на переднем конце зародыша. На заднем конце зародыша имеется группа из 7—10 мелких плотных соматических ядер. На полюсах зародыша дополнительно имеется по одному апикальному соматическому ядру. Около полового зародыша имеется 4 увеличенных

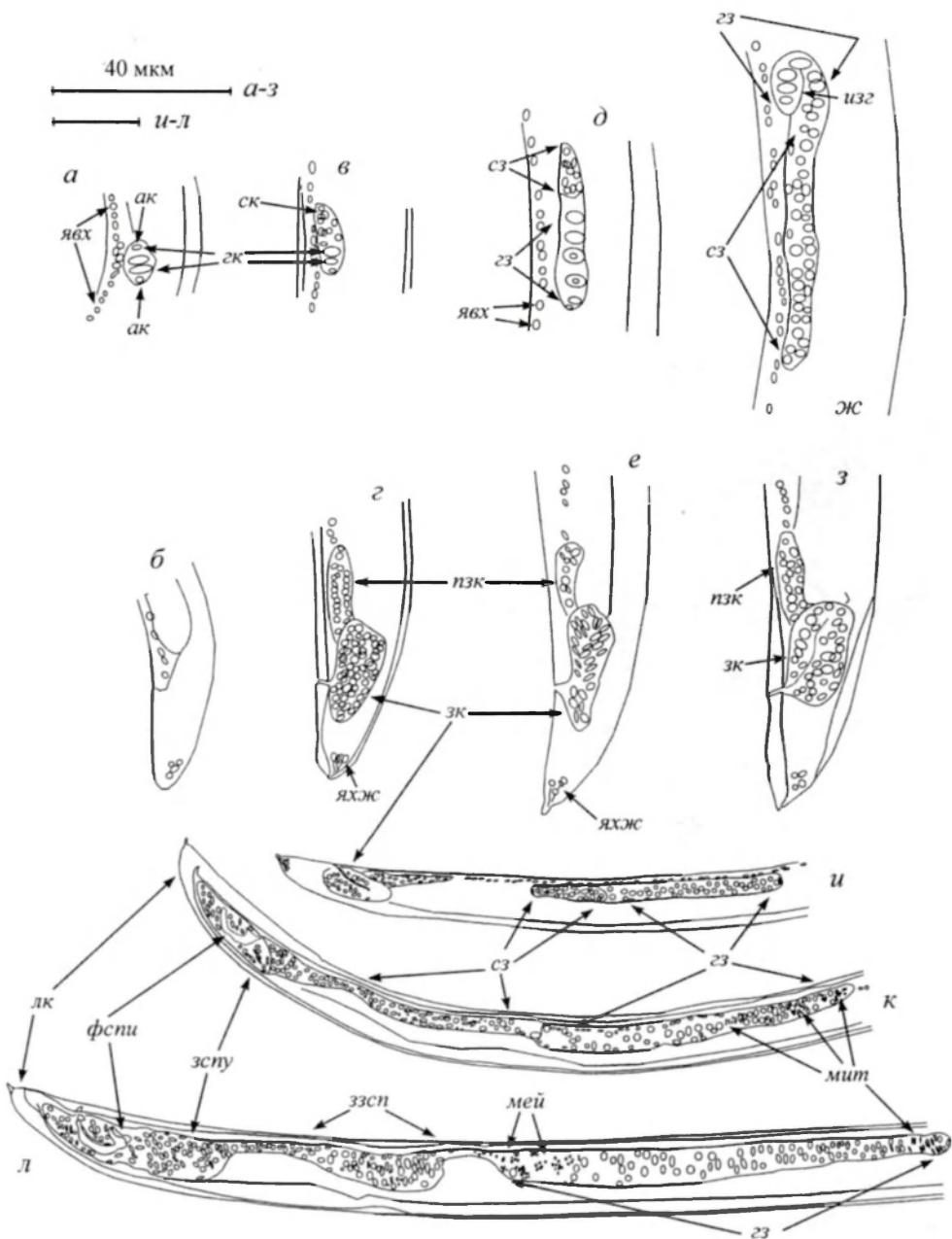


Рис. 5. Половой зачаток личинок самца.

a, б — личинки 2-го возраста; *в, г* — линька со 2-го на 3-й возраст; *д, е* — личинка 3-го возраста; *ж, з* — линька с 3-го на 4-й возраст; *и* — личинка 4-го возраста; *к, л* — линька с 4-го возраста на половозрелого самца (*к* — ранняя, *л* — поздняя). Все фигуры — вид с латеральной стороны. *мей* — мейозы. Остальные обозначения те же, что и на рис. 2—4.

Fig. 5. Genital primordium structure in the male development.

светлых ядра вентральной гиподермальной хорды. Зачаток клоаки отсутствует.

Личинка самца в стадии линьки J_{2♂}—J_{3♂} (рис. 4, *в*; 5, *в*, *г*)

Измерения и индексы (*n* = 4).

L 337 (253—370); стоматостиль 12 (10—13); глотка до глоточно-кишечного соединения 72 (56—79); глотка до заднего конца лопасти желез 119.5 (95—130); хвост 21 (15—23); длина полового зачатка 16.3 (15—17); ширина полового зачатка 6.5 (6—8); длина зачатка клоаки 17; ширина зачатка клоаки 6.

а 23.6 (22.0—26.5); б 4.7 (4.5—4.8); б' 2.8 (2.7—2.9); с 16.1 (15.7—16.9); с' 2.8 (2.4—3.4); (Gp) 61.1 (59.7—64.4) %; отношение длины полового зачатка к его ширине 2.5 (2.1—2.8); отношение длины герминальной части полового зачатка к длине полового зачатка 57 (53—63) %; отношение длины полового зачатка к длине тела 4.9 (4.4—5.9) %; отношение длины зачатка клоаки к его ширине 2.8; отношение длины зачатка клоаки к длине тела 7 %.

Две крупные герминальные клетки находятся на заднем конце зачатка. На переднем конце зачатка имеется группа из 8—10 мелких соматических ядер. На полюсах зачатка дополнительно имеется по одному апикальному соматическому ядру. Имеется зачаток клоаки.

Личинки третьего возраста (J₃) (рис. 2, *в*; 3, *д*, *е*; 4, *г*; 5, *д*, *е*)

Строение переднего отдела тела сходно с таковым у личинок предыдущего возраста.

4—8 герминальных клеток, 8—12 соматических клеток у личинок обоих полов. Личинки самцов отличаются от личинок самок: у личинок самцов имеется зачаток клоаки, герминальная часть зачатка расположена на заднем конце последнего (у личинки самки зачаток клоаки отсутствует; герминальная часть зачатка в передней части последнего).

Кончик хвоста с тупым коротким выростом — мукро длиной 2—2.5 мкм, к которому подходят протоки 4 одноклеточных хвостовых желез, ядра и протоки последних хорошо окрашиваются орсеином.

Личинка самки третьего возраста (J_{3♀}) (рис. 2, *в*; 3, *д*, *е*)

Измерения и индексы (*n* = 20).

L 474.7 ± 63.4 (369—573); стоматостиль 13.0 ± 0.6 (12—14); глотка до глоточно-кишечного соединения 77.5 ± 4.5 (71—84); глотка до заднего конца лопасти глоточных желез 122.9 ± 8.7 (108—133); хвост 26.6 ± 3.3 (22—32); длина полового зачатка 32.9 ± 5.5 (23—40); ширина полового зачатка 7.1 ± 1.6 (5—10), экскреторная пора от переднего конца тела 78 ± 5.2 (69—83).

а 32.0 ± 4.4 (28.3—44.1); б 6.1 ± 0.7 (5.2—7.6); б' 3.9 ± 0.5 (3.4—4.9); с 17.9 ± 2.1 (13.7—20.3); с' 3.5 ± 0.5 (2.8—4.4); (V) 67 ± 4 (59—72) %; отношение длины полового зачатка к его ширине 4.8 ± 0.6 (4—6); отношение длины герминальной части полового зачатка к длине полового зачатка 63 ± 10 (50—77) %; отношение длины полового зачатка к длине тела 7.0 ± 1.4 (5.3—8.8) %.

7—8 герминальных клеток с крупными светлыми ядрами в передней части полового зачатка. В задней части зачатка 8—12 плотных мелких соматических ядер. На каждом полюсе зачатка по одной апикальной клетке с мелким плотным ядром. С вентральной стороны к половому зачатку на уровне его соматической зоны прилегает дисковидный зачаток вульвы из 7 клеток: 1-ядро в центре и 6 соматических ядер в виде кольца.

Личинка самца третьего возраста (J_{3♂}) (рис. 4, *г*; 5, *д*, *е*)

Измерения и индексы ($n = 20$).

L 451.1 ± 71.8 (344—537); стоматостиль 13.1 ± 0.6 (12—14); глотка до глоточно-кишечного соединения 74.6 ± 7.4 (63—84); глотка до заднего конца глоточных желез 114.6 ± 9.6 (96—123); хвост 26.1 ± 3.7 (18—30); длина полового зачатка 32.5 ± 7.4 (20—40); ширина полового зачатка 7.8 ± 2.3 (5—13); длина зачатка клоаки 22.3 ± 3.1 (18—27); ширина зачатка клоаки 8.1 ± 1.1 (7—10), экскреторная пора от переднего конца тела $= 80 \pm 2.6$ (76—83).

a 33.0 ± 8.1 (21.7—46.8); b 6.0 ± 0.5 (5.4—6.9); b' 3.9 ± 0.4 (3.3—4.4); c 17.4 ± 2.1 (14.7—21.5); c' 3.3 ± 0.8 (2.4—5.1); (Gp) 61 ± 2 (58—65) %; отношение длины полового зачатка к его ширине 4.6 ± 1.7 (1.9—7.8); отношение длины герминальной части полового зачатка к длине полового зачатка 64 ± 6 (50—71) %; отношение длины полового зачатка к длине тела 7 ± 1 (6—10) %; отношение длины зачатка клоаки к его ширине 2.8 ± 0.5 (2.2—3.6); отношение длины зачатка клоаки к длине тела 5 ± 1 (3—6) %.

4—6 герминальных клеток с крупными ядрами в задней части полового зачатка. 10—12 соматических клеток с мелкими плотными ядрами в передней части зачатка. На каждом полюсе зачатка по одной апикальной клетке с мелким ядром. Имеется зачаток клоаки. Видны митозы в соматической части полового зачатка и вentralной передней части зачатка клоаки.

Личинки в стадии линьки J3—J4

Личинка самки в стадии линьки J3♀—J4♀ (рис. 2, г; 3, ж, з)

Измерения и индексы ($n = 4$).

L 491.8 (472—540); стоматостиль 13.0 (12—15); глотка до глоточно-кишечного соединения 76.3 (69—81); глотка до заднего конца лопасти глоточных желез 127.0 (120—131); хвост 31.0 (28—33); длина полового зачатка 74.5 (53—87); ширина полового зачатка 8.5 (8—9), экскреторная пора от переднего конца тела $98—99$.

a 28.9 (20.4—33.9); b 9.1 (5.8—16.6); b' 4.4 (3.6—6.2); c 13.3 (4.0—16.9); c' 3.5 (2.0—4.9); (V) 74.7 (71—78) %; отношение длины полового зачатка к его ширине 7.9 (2—9.9); отношение длины герминальной части полового зачатка к длине полового зачатка 48 (30—73) %; отношение длины полового зачатка к длине тела 13.9 (5.9—18.3) %.

8 герминальных клеток с крупными ядрами в передней части полового зачатка; 14—20 соматических клеток с мелкими плотными ядрами в задней части полового зачатка. К задней части полового зачатка с ventralной стороны прилегает дисковидный зачаток вульвы из 6 радиальных клеток и i-ядра в центре. Митозы в соматической части полового зачатка. Четыре одноклеточные железы на кончике хвоста.

Личинка самца в стадии линьки J3♂—J4♂ (рис. 4, д; 5, ж, з).

Измерения и индексы ($n = 5$).

L 604.4 (472—741); стоматостиль 13 (12—15); глотка до глоточно-кишечного соединения 81.6 (74—90); глотка до заднего конца глоточных желез 134.6 (118—152); хвост 31.0 (25—35); длина полового зачатка 66.2 (41—80); ширина полового зачатка 6.8 (4—9); длина зачатка клоаки 34.6 (32—37); ширина зачатка клоаки 9.8 (8—13), экскреторная пора от переднего конца тела 76 (67—91).

a 37.0 (25.6—49.6); b 7.4 (5.9—8.2); b' 4.5 (3.7—5.2); c 19.5 (15.2—21.3); c' 3.6 (2.9—4.4); (Gp) 56 (47—60) %; отношение длины полового зачатка к его ширине 10.8 (4.6—18.3); отношение длины герминальной части полового зачатка к длине полового зачатка 62 (48—74) %; отношение длины полово-

го зачатка к длине тела 11 (7—17) %; отношение длины зачатка клоаки к ее ширине 3.6 (2.8—4.4); отношение длины зачатка клоаки к длине тела 6 (5—8) %.

Герминальная часть спереди полового зачатка, соматическая в задней части зачатка. Это говорит об изменении полярности зачатка в процессе его роста, на 2 экз. обнаружен обратный изгиб герминальной части (рис. 5, ж), что указывает на гибкий переворот конца соматической части зачатка кзади (у личинки самца третьего возраста соматическая часть располагалась на переднем конце зачатка). Видны митозы в соматической части полового зачатка. В герминальной части 6—8 клеток с крупными ядрами, в соматической части 20—30 клеток, расположенных в 2 ряда. В зачатке клоаки видны митозы.

Личинки четвертого возраста (J4) (рис. 2, *д*; 3, *и*; 4, *е*; 5, *и*)

Строение переднего отдела тела сходно со строением этого отдела у личинки предыдущего возраста.

Личинки четвертого возраста отличаются от личинок предыдущих стадий длинным половым зачатком (длина превышает ширину в 10 и более раз) и массивными зачатками наружных половых органов — вульвы у личинки самки и клоаки у личинок самца. Личинки самца отличаются от личинок самки по следующим признакам: зачаток клоаки имеется, зачаток вульвы отсутствует; у личинки самки зачаток клоаки отсутствует, имеется массивный многоклеточный зачаток вульвы с вентральной стороны заднего конца полового зачатка.

Кончик хвоста округлый, с тонким мукро длиной 2.5—4 мкм и несет 4 одноклеточные железы с протоками, достигающими основания мукро.

Личинка самки четвертого возраста (J4♀) (рис. 2, *д*; 3, *и*)

Измерения и индексы (*n* = 20).

L 582 ± 74.2 (470—689); стоматостиль 13 ± 1.0 (12—15); глотка до глоточно-кишечного соединения 80 ± 5.2 (72—92); глотка до заднего конца глоточных желез 142 ± 8.1 (129—156); хвост 29 ± 5.8 (24—39); длина полового зачатка 197 ± 37.0 (140—260); ширина полового зачатка 7 ± 2.2 (5—12), экскреторная пора от переднего конца тела 86 ± 5.3 (81—97).

а 48.9 ± 8.2 (35.1—58.3); б 7 ± 0.8 (6.0—8.8); б' 4.1 ± 0.5 (3.4—5.1); с 20.3 ± 3.6 (12.4—24.8); с' 4.3 ± 0.5 (3.9—5.3); (V) 76 ± 2 (72—81) %; отношение длины полового зачатка к его ширине 30.9 ± 9.4 (15.6—45.2); отношение длины герминальной части полового зачатка к длине полового зачатка 38 ± 6 (28—49) %; отношение длины полового зачатка к длине тела 34 ± 4 (28—40) %.

В соматической части 20—40 клеток, в герминальной части 50—80 клеток, оформлена зона роста с митозами в переднем участке герминальной зоны. Митозы в соматической части, в последней двухрядное и в отдельных участках четырехрядное расположение клеток, обособлен зачаток матки с многорядным расположением клеток. В половой трубке дифференцированы зачаток сперматеки и зачаток скорлуповой железы. Зачаток вульвы массивный, расположен с вентральной стороны зачатка матки. Поствульварная ветвь полового зачатка отсутствует.

Личинка самца четвертого возраста (J4♂) (рис. 4, *е*; 5, *и*).

Измерения и индексы (*n* = 20).

L 602 ± 85.9 (429—726); стоматостиль 14.0 ± 1.0 (12—16); глотка до глоточно-кишечного соединения 86 ± 8.6 (66—102); глотка до заднего конца желез глотки 137 ± 15.9 (113—167); хвост 29.0 ± 4.4 (22—40); длина полового зачатка

156 ± 42.4 (98—248); ширина полового зачатка 8.0 ± 2.0 (5—14); длина зачатка клоаки 41 ± 6.9 (25—53); ширина зачатка клоаки 12 ± 2.8 (8—20); экскреторная пора от переднего конца тела 80.8 ± 9.5 (68—91).

$a = 45.7 \pm 7.1$ (32—59); $b = 7.0 \pm 0.5$ (6.0—7.8); $b' = 4.0 \pm 0.4$ (3.8—5.2); $c = 21.0 \pm 2.3$ (15.6—24.9); $c' = 3.3 \pm 0.5$ (2.7—4.3); $(Gp) = 76 \pm 5$ (66—88) %; отношение длины полового зачатка к его ширине 20 ± 5.1 (14.4—31.0); отношение длины герминалной части полового зачатка к длине полового зачатка 74 ± 4 (65—80) %; отношение длины полового зачатка к длине тела 23 ± 4 (20—32) %; отношение длины зачатка клоаки к его ширине 3.5 ± 0.9 (2.0—5.0); отношение длины зачатка клоаки к длине тела 7 ± 1 (5—9) %.

Герминалная часть из 30—50 клеток, соматическая из 20—30 клеток.

Соматическая часть не соединена с зачатком клоаки, клетки в ней расположены в 2—4 ряда. Зачаток клоаки разделен на 2 части: на собственно зачаток клоаки (сзади вокруг ректума) и на зачаток предстательной железы и семенного пузырька спереди от ректума, вентрально; в обеих частях зачатка клоаки идут митозы.

Личинки в стадии линьки с преадультной личинки на половозрелую особь

Личинка самки в стадии линьки J4♀ — половозрелая самка (рис. 2, *e*; 3, *k*). Измерения и индексы ($n = 4$).

$L = 699$ (690—709); стоматостиль 14; глотка до глоточно-кишечного соединения 77 (69—85); глотка до заднего конца глоточных желез 122 (110—131); хвост 33 (32—35); длина полового зачатка 364 (345—378); ширина полового зачатка 19 (14—24); экскреторная пора от переднего конца тела 76 (73—79).

$a = 33.2$ (30.1—36.3); $b = 9.0$ (8.1—10.1); $b' = 5.8$ (5.3—6.4); $c = 21$ (20.1—22.2); $c' = 4.1$ (3.9—4.4); $(V) = 75$ (74—75) %; отношение длины полового зачатка к его ширине 21 (14.4—25.7); отношение длины герминалной части полового зачатка к длине полового зачатка 39 (34—43) %; отношение длины полового зачатка к длине тела 52 (50—54) %.

На месте вульвы формируется светлая область и происходит впячивание зачатка вульвы и стенки тела в вульварной области внутрь. В герминалной области имеется обширная зона роста с большим количеством митозов. Соматическая часть отчетливо подразделяется на отделы: зачаток сперматеки, зачаток скрлуповой железы, зачаток матки. Формируется поствульварная часть полового зачатка, т. е. зачаток заднего мешка матки (за счет удлинения кзади соматической части полового зачатка), эта часть занимает более 80 % расстояния вульварная область—анус или 5—6 вульварных диаметров тела.

Личинка самца в стадии линьки J4♂ — половозрелый самец (рис. 4, *ж*, *з*; 5, *к*, *л*).

Измерения и индексы ($n = 8$).

$L = 657.0 \pm 73.5$ (536—719); стоматостиль 14.0 ± 1.7 (12—18); глотка до глоточно-кишечного соединения 87 ± 5.5 (80—94); глотка до заднего края глоточных желез 137.0 ± 7.9 (125—148); хвост 35.0 ± 4.8 (31—41); длина полового зачатка 327.0 ± 58.7 (229—392); ширина полового зачатка 15 ± 2.1 (12—18); длина зачатка клоаки 86.0 ± 10.9 (75—104); ширина зачатка клоаки 15.0 ± 3.0 (10—19).

$a = 33.4 \pm 2.1$ (29.4—36.4); $b = 8.0 \pm 0.7$ (6.7—8.6); $b' = 5.0 \pm 0.6$ (4.1—5.8); $c = 19.1 \pm 3.8$ (13.3—23.2); $c' = 3.4 \pm 0.6$ (2.6—4.1); отношение длины полового зачатка к его ширине 23 ± 4.9 (18.4—30.2); отношение длины герминалной

части полового зачатка к длине полового зачатка 66 ± 6 (60—76) %; отношение длины полового зачатка к длине тела 49 ± 4 (42—55) %; отношение длины зачатка клоаки к его ширине 5.9 ± 1.4 (4.4—8.8); отношение длины зачатка клоаки к длине тела 13 ± 2 (11—16) %. Индекс (Gp) не вычисляли, поскольку половой зачаток на этой стадии соединился с зачатком клоаки и вычисление относительного положения заднего конца полового зачатка вдоль тела не имеет смысла.

В задней части герминальной зоны (участок созревания) заметны профазы мейоза, т. е. идет формирование сперматид. Соматическая часть полового зачатка соединяется с передним отделом зачатка клоаки, они вместе образуют веретеновидное тело — зачаток зоны сперматид (рис. 5, л). В соматической части полового зачатка не менее 4 рядов из 40 и более клеток каждый. Внутри зачатка клоаки видны формирующиеся кутикулярные спикулы. На заднем кончике хвоста отслаивается кутикула с муко, внутри линочной кутикулы идет формирование овального терминального крыла бурсы.

Половозрелые самки и самцы (рис. 6)

Половозрелые особи представляют пятую, завершающую стадию цикла развития. Они отличаются от личинок наличием сформированных наружных половых органов (спикул у самца и вульвы у самки) и полностью развитой половой системы. Крупные размеры позволяют подробно рассмотреть строение половозрелых червей.

Головная область эллипсовидная, уплощена спереди, с округлыми краями, без отчетливой кольчатости, спереди видны 4 сублатеральные папиллы и латеральные поровидные отверстия амфидов. Внутренний скелет губной области с среднеразвитыми базальной пластинкой и секторальными пластинками. Стилет тонкостенный, с очень узким внутренним каналом, состоит из конической и трубчатой частей, примерно равных по длине. Базальные утолщения стиleta отчетливые, но слабые, в виде асимметричных продольных гребней, один из дорсальных удлинен кзади и более массивный, чем два остальных. Прокорпус глотки с внутренним кутикулярным каналом переходит в мощный медиальный бульбус с двуслойной мускулатурой и мощным кутикулярным клапаном. Кпереди от последнего расположено место соединения протока дорсальной железы с каналом глотки, позади клапана в медиальном бульбусе внутрь канала глотки открывается 2 протока вентросублатеральных желез глотки. Непосредственно позади медиального бульбуса расположен короткий круглый глоточно-кишечный сфинктер, окруженный скошенным нервным кольцом,entralный конец которого соединяется с кутикулой вентральной поверхности. Экскреторная пора позади нервного кольца на расстоянии, равном толщине последнего. Гемизонид на ширину 1—2 колец кутикулы позади экскреторной поры. Дейриды не видны. Позади нервного кольца с дорсальной стороны расположена лопасть желез глотки с телами 3 одноклеточных желез, чьи протоки открываются в канал глотки в медиальном бульбусе: в задней части лопасти видно крупное ядро дорсальной железы и кпереди от последнего 2 более мелких ядра вентросублатеральных желез. Средний кишечник начинается сразу позади глоточно-кишечного сфинктера; нервное кольцо окружает сфинктер и начало среднего кишечника и поэтому является циркумтестинальным. Средний кишечник содержит жировые гранулы и крупные ядра, клеточные границы кишечника неразличимы, возможно, он представляет собой синцитиальную структуру. Латеральное поле продолжается от нервного кольца до середины

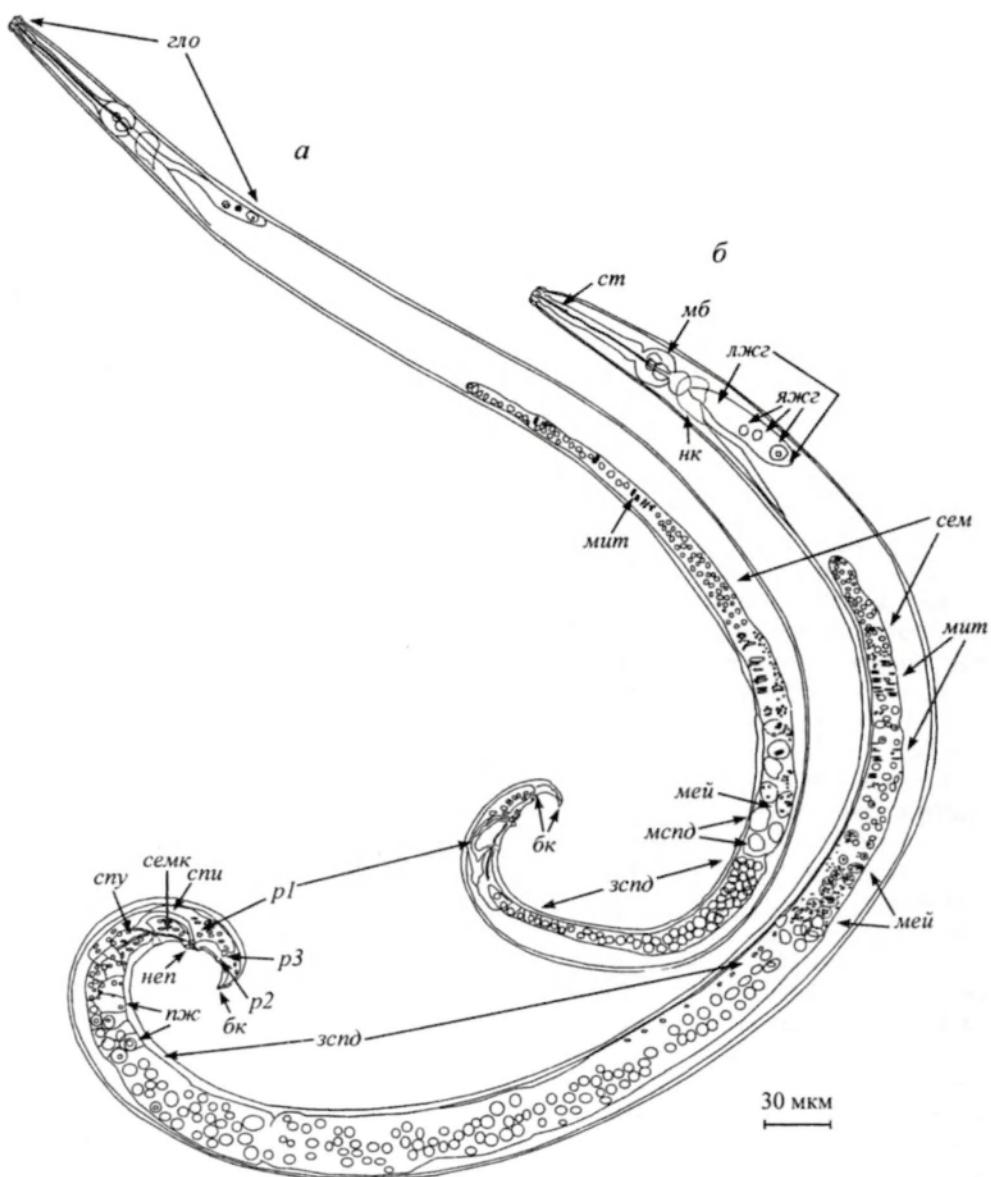


Рис. 6. Половозрелый самец.

a, б — общий вид с вентральной стороны. *бк* — крыло бурсы, *зспд* — зона сперматид, *мспд* — молодые сперматиды (ярко окрашенные), *неп* — непарная преклоакальная папилла, *пж* — предстательная железа, *семк* — семиязвергательный канал, *спи* — спикулы, *спу* — семенной пузырек, *яжс* — ядра желез глотки, *р1* — первая пара постанальных хвостовых папилл, *р2* — вторая пара постанальных хвостовых папилл, *р3* — третья пара постанальных хвостовых папилл. Остальные обозначения те же, что и на рис. 2, 3, 5.

Fig. 6. Adult male.

хвоста. В центральной части тела в латеральном поле имеется 4 равноудаленные инцизуры, иногда 2 центральные инцизуры сильно сближены и поле может выглядеть, как состоящее из 3 линий.

Половозрелая самка (рис. 2, *жс*).

Измерения и индексы ($n = 20$).

$L = 948.0 \pm 101.9$ (834—1111); стилет 15.0 ± 1.4 (14—17.5); глотка до глоточно-кишечного соединения 90.0 ± 8.7 (77—101); глотка до заднего края глоточно-кишечных желез 155.0 ± 17.6 (124—170); длина вульварного щитка 14.0 ± 2.0 (11—16); длина гонады 662.0 ± 143.9 (435—868); постuterальный мешок 145 ± 18.7 (115—171); расстояние вульва—анус 207 ± 26.9 (179—248); хвост 37 ± 6.0 (30—45).

$a = 52.2 \pm 15.3$ (36.4—74.2); $b = 11.0 \pm 1.3$ (8.3—11.5); $b' = 6.2 \pm 0.7$ (5.1—6.9); $c = 26.5 \pm 5.0$ (21.5—33.1); $c' = 4.9 \pm 0.4$ (4.2—5.4); $V = 75 \pm 1$ (74—77) %; отношение длины гонады к длине тела 69 ± 10 (52—79) %; отношение длины гонады к ее ширине 38.4 ± 10.3 (24.2—54.5); длина постuterального мешка равна 5.3 ± 1.4 (3.6—6.9) вульварного диаметра тела и 70 ± 5 (64—78) % расстояния вульва—анус.

Половая система состоит из яичника и группы соматических отделов: яйцевода со сфинктером, овальной сперматеки с округлыми спермиями, скорлуповой железы из крупных гранулированных клеток, сфинктера скорлуповой железы, матки, заднего мешка матки. Яичник состоит из передней зоны роста с двухрядным расположением и многочисленными митозами клеток оогониев и расположенной позади зоны созревания. Наружные половые органы состоят из кутикуляризованной вульвы с длинным вульварным щитком — производным передней губы вульвы, кутикулярной вагины и вагинального кольца вокруг центральной части вагины. Вagina открывается в матку, в этом месте с дорсальной стороны матки имеется плотная структура из двух пар темных клеток.

Задний мешок матки занимает более 60 % расстояния между вульвой и анусом, соединен с маткой без сфинктера, иногда может содержать спермии или яйцо перед яйцекладкой.

Хвост конически закругленный, с округло-коническим терминусом, на конце которого имеется узкое острое мукро длиной 4—6 мкм. Вблизи кончика хвоста имеются 4 одноклеточные железы, окрашающиеся орсином, чьи протоки открываются у основания мукро.

Половозрелый самец (рис. 6).

Измерения и индексы ($n = 20$).

$L = 824.7 \pm 128.7$ (628—971); стилет 14.8 ± 1.2 (13—17); глотка до глоточно-кишечного соединения 88.2 ± 6.6 (79—96); глотка до заднего конца лопасти глоточных желез 139.4 ± 15.4 (118—163); спикулы (по дуге) 31.9 ± 3.6 (25—36); длина гонады 495.9 ± 86.3 (369—605); хвост 37.9 ± 4.9 (31—47).

$a = 51.2 \pm 6.9$ (42.7—66.3); $b = 9.3 \pm 1.4$ (7.6—12.1); $b' = 5.9 \pm 0.7$ (5.2—7.5); $c = 21.7 \pm 1.4$ (19.9—23.7); $c' = 3.7 \pm 0.5$ (3.0—4.3); отношение длины гонады к длине тела 60 ± 5 (53—68) %; отношение длины гонады к ее ширине 35.9 ± 8.2 (23.7—49.1).

Мужская половая система состоит из семенника, предстательной железы, семенного пузырька, семязавергательного канала и спикул, расположенных в клоаке.

В передней части семенника имеется зона сперматогониев, за ней следует зона роста с большим количеством митозов; за зоной роста следует зона созревания с расположенными в 2—4 ряда сперматоцитами. В задней части зоны созревания видны стадии мейоза: профаза и метафаза, причем в последней различимы 5—6 точковидных (ахромоцентрических) хромосом гаплоидного набора (рис. 6, б). В конце зоны созревания видны крупные сперматиды с особо ярко окрашенной орсином цитоплазмой. Зона роста и зона созревания характеризуются темной окраской орсином в отличие от последующих светлых отделов семенника. За зоной созревания расположена зона

сперматид, составляющая более половины длины половой системы самца. Сперматиды — крупные светлые клетки с большим количеством цитоплазмы. Зона сперматид — задний отдел семенника. За ним следует предстательная железа, состоящая из 4 рядов по 5—7 крупных полигональных клеток. Позади предстательной железы находится семенной пузырек, наполненный мелкими спермиями и секреторным материалом. От него к отверстию клоаки проходит семязвергательный канал.

Парные спикулы находятся внутри клоаки и снабжены системой мышц ретракторов, крепящихся к головке и лезвию спикулы. Губернакулум отсутствует. Головка спикулы плоская, имеет 2 выроста — вентральный острый длинный рострум и короткий округлый кондиллюс. Рострум соединяется с вентральной поверхностью тела массивной прозрачной связкой. Рукоятка спикулы не выражена, лезвие начинается непосредственно от головки, дорсальный край (лимб) лезвия имеет угловатый излом в задней трети длины спикулы. Кончик спикулы несет дисковидную мелкую структуру — кукуллюс, двураздельную с заднего края диска. Кукуллюс вероятно представляет собой папиллу (Кулинич, Рысс, 2006).

Хвост обращенный, т. е. сильно загнут вентрально наподобие ручки зонтика, конически-закругленный, на его кончике расположено бурсальное крыло, при рассмотрении с вентральной стороны его задний край тупо обрезан. Имеются 3 пары хвостовых папилл и одна непарная папилла, расположенная на передней губе отверстия клоаки. Передняя пара хвостовых постакальных папилл расположена непосредственно позади клоаки (аданальная пара p1), другие две пары папилл расположены у основания бурсального крыла: одна (вторая) медиальная пара ближе к центральной линии вентральной поверхности хвоста (p2) и третья пара (p3) также на уровне основания бурсального крыла хвоста, но более латерально, чем вторая пара.

Ключ для идентификации возраста и пола личинок

Ключ составлен для нелиняющих особей, поскольку линяющие экземпляры чрезвычайно редки.

1. Наружные половые органы (спикулы или вульва) имеются 2.
— Наружные половые органы отсутствуют 3.
2. Спикулы имеются, вульва отсутствует половозрелый самец (рис. 6).
— Спикулы отсутствуют, вульва имеется половозрелая самка (рис. 2, ж).
3. Половой зачаток удлиненный, занимает не менее 1/5 длины тела 4.
— Половой зачаток компактный, занимает не более 1/10 длины тела 5.
4. Зачаток клоаки имеется, с ним часто соединен половой зачаток личинка самца 4 возраста (J4♂, рис. 4, е; 5, ж, и).
— Зачаток клоаки отсутствует, у задней части полового зачатка имеется вентральное уплотнение — зачаток вульвы личинка самки 4 возраста (J4♀; рис. 2, д; 3, и).
5. Половой зачаток из двух крупных клеток в центре и двух мелких клеток на полюсах личинка 2 возраста (J2; пол не идентифицируем; рис. 2, а, б; 3, а, б).
— Половой зачаток из 10 и более клеток 6.
6. Половой зачаток состоит из 4—6 крупных герминальных клеток на заднем конце и группы из 10—12 мелких соматических клеток на перед-

- нем конце, зачаток клоаки имеется личинка самца 3 возраста ($J3\sigma$; рис. 4, *г*; 5, *д*, *е*).
— Половой зачаток состоит из 7—8 крупных герминальных клеток на переднем конце и группы из 8—12 мелких соматических клеток на заднем конце, зачаток клоаки отсутствует личинка самки 3 возраста ($J3\varphi$; рис. 2, *в*; 3, *д*, *е*).

ОБСУЖДЕНИЕ

Из результатов исследования развития половой системы *B. mucronatus* видно, что имеется ранняя дифференциация зачатка на герминальную часть, дающую начало половым клеткам семенника, и соматическую часть, из которой формируются клетки обкладки половой системы. Это подтверждает выводы других исследователей нематод (Hirschmann, 1962, 1971; Hirschmann, Trianaphyllum, 1968; Sulston, Horvitz, 1977). У самок *B. mucronatus* дифференцируются сперматека (для длительного хранения спермы при редких копуляциях) и скорлуповая железа. Это отличает надсем. Aphelenchoidea от более примитивного надсем. Aphelenchoidea, где функции сперматеки и скорлуповой железы выполняет не разделенный на части преутеральный отдел (Рысс, Чернецкая, в печати). У самцов *B. mucronatus* отделы семяпроводов (*vas deferens*) формируются за счет передней части зачатка клоаки.

Как видно на примере *B. mucronatus*, у самцов видов продвинутого надсем. Aphelenchoidea губернакулум отсутствует, рукоятка спикулы не выражена (спикула состоит из головки и лезвия), а головка спикулы плоская. Напротив, в примитивном надсем. Aphelenchoidea спикулы напоминают типичные спикулы нематод отряда Tylenchida: имеются губернакулум и достаточно длинная рукоятка спикулы; головка спикул округлая (Рысс, Чернецкая, в печати).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят Koichi Hasegawa (Япония, Киото, Faculty of Agriculture, Kyoto Prefectural University) за ознакомление с методом наблюдения эмбрионального развития нематод в тонкой агаровой пленке, а также профессора Yasuharu Mamyia (Япония, Токио, Tamagawa University) за рекомендации по выявлению линяющих экземпляров афеленхидных нематод и подсчету количества линек. Использованы публикации из электронной библиотеки P. Vieira и профессора M. Mota (Португалия, Университет г. Эвора). Первый автор для проведения исследования использовал гранты РФФИ № 05-07-90354-в и 06-04-08020, проект «Антарктика» (ФЦП «Мировой океан») и программу «Биоразнообразие».

Список литературы

- Кулинич О. А., Рысс А. Ю. 2006. Древесные нематоды рода *Bursaphelenchus* на территории России. В кн. Прикладная нематология. С. В. Зиновьева, В. Н. Чижов (ред.). М.: Наука. С. 162—185.
Рысс А. Ю. 1981. Морфогенез женской половой системы в надсемействе Tylenchoidea (Nematoda). Паразитология. 15: 533—542.
Рысс А. Ю. 1988. Корневые паразитические нематоды семейства Pratylenchidae (Tylenchida) мировой фауны. Л.: Наука. 368 с.

- Рысс А. Ю. 2007. Основные направления эволюции паразитизма фитонематод отряда Aphelenchida Siddiqi, 1980. Паразитология. 41 (6): 484—511.
- Рысс А. Ю., Чернецкая А. Ю. 2009. Цикл развития *Paraphelenchus myceliophthorus* Goodey, 1958 (Nematoda: Aphelenchida). Паразитология. (В печати).
- Hasegawa K., Miwa S., Futai K., Miwa J. 2004. Early embryogenesis of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. Development, Growth and Differentiation. 46: 153—161.
- Hasegawa K., Mota M., Futai K., Miwa J. 2006. Chromosome structure and behaviour in *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae) germ cells and early embryo. Nematology. 8 (3): 425—434.
- Hirschmann H. 1962. Life cycle of the *Ditylenchus triformis* (Nematoda: Tylenchida) with emphasis on post-embryonic development. Proceedings of the Helminthological Society Washington. 29 (1): 30—43.
- Hirschmann H. 1971. Comparative morphology and anatomy. In: Plant parasitic nematodes. Vol. I. B. M. Zuckerman, Mai W. F., Rohde R. A. (eds) New York: Acad. Press. P. 9—63.
- Hirschmann H., Triantaphyllou A. C. 1968. Mode of reproduction and development of the reproductive system of *Helicotylenchus dihystera*. Nematologica. 13 (4): 558—574.
- Hunt D. J. 1993. Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae. Their Systematics and Bionomics. Wallingford, Oxon, UK: CAB International, xx + 352 p.
- OEPP/EPPPO 2006. EPPO A1 and A2 Lists of pests recommended for regulation as quarantine pests. European and Mediterranean Plant Protection Organization, <http://www.eppo.org/QUARANTINE/quarantine.htm> (вебсайт).
- Ryss A. 2003. Express technique to prepare collection slides of nematodes. Zoosystematica Rossica. 11 (2): 257—260.
- Ryss A., Vieira P., Mota M., Kulinich O. 2005a. A synopsis of the genus *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 (Aphelenchida: Parasitaphelenchidae) with keys to species Nematology. 7 (3): 393—458.
- Ryss A., Bostrom S., Sohlenius B. 2005b. Tylenchid nematodes found on the nunatak Basen, East Antarctica. Annales Zoologici (Warszawa). 55 (3): 45—56.
- Sulston J. E., Horvitz H. R. 1977. Post-embryonic cell lineages of the nematode *Caenorhabditis elegans*. Dev. Biol. 56: 110—156.
- Zhao B. G., Wang H. L., Han S. F., Han Z. M. 2003. Distribution and pathogenicity of bacteria species carried by *Bursaphelenchus xylophilus* in China. Nematology. 6: 899—906.
- Zhao B. G., Lin F. 2005. Mutualistic symbiosis between *Bursaphelenchus xylophilus* and bacteria of the genus *Pseudomonas*. Forest Pathology. 35: 339—345.

LIFE-CYCLE OF *BURSAPHELENCHUS MUCRONATUS* MAMIYA ET ENDA, 1979 (NEMATODA: APHELENCHIDA)

A. Y. Ryss, A. Y. Chernetskaya

Key words: Nematoda, Aphelenchida, *Bursaphelenchus*, development, postembryogenesis, juveniles, juvenile stage diagnostics, juvenile sex diagnostics, morphology, male papillae.

SUMMARY

Postembryonic development of *Bursaphelenchus mucronatus* has been studied. First molt takes place within the egg-shell, and three subsequent molts after hatching. Structure of all juvenile stages are described, as well as molting juveniles and adults. Juvenile stages differ in genital primordium structure, copulatory structures primordial and the body length. In juveniles of 3rd and 4th stage the sex of juvenile was distinguished: male juveniles have cloacal primordium, whereas female juveniles have vulval primordium. Adults differ from juveniles in presence of vulva in females and spicules in males. The key to identify juvenile stages and their sex is given. Male has the terminal bursal flap and 3 pairs of tail papillae: p1 anadanal; p2 and p3 at the bursal flap base: p2 close to mid-line of the ventral body surface, p3 located laterally to p2 at the same level. Unpaired papilla is present on the upper cloacal lip, on the ventral mid-line.